



## RAPORT ȘTIINȚIFIC

PN-III-P1-1.1-PD-2021-0606, Contract Nr. PD 37 / 2022

**Scualenizarea și încapsularea micelară ca metodă alternativă pentru îmbunătățirea eficienței biologice a medicamentelor antitumorale și antimicrobiene**

*(Acronim: Drug-ReSQue)*

**Etapa I (01 aprilie 2022 – 31 decembrie 2022)**

**Design-ul, sinteza și caracterizarea unei serii de medicamente scualenizate (metotrexat și citarabină). Design-ul, sinteza și caracterizarea unei serii de nanoterapeutice scualena PEG-ilată-medicament comercial (metotrexat și citarabină). Testarea *in vitro* a medicamentelor modificate obținute.**

Detaliile activităților realizate în cadrul etapei 1 sunt redată în tabelul de mai jos:

**Planul de realizare al proiectului Drug-ReSQue. Etapa 2022.**

Etapa I	Activitățile incluse	Rezultate
<b>Design-ul, sinteza și caracterizarea unei serii de medicamente scualenizate (metotrexat și citarabină). Design-ul, sinteza și caracterizarea unei serii de nanoterapeutice scualena PEG-ilată-medicament comercial (metotrexat și citarabină). Testarea <i>in vitro</i> a medicamentelor modificate obținute.</b>  <b>Livrabile:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>Raport de cercetare</li><li>Participarea la o conferință</li></ul>	<b>A1.1.</b> Sinteza aldehidei scualenice	<b>1 participare la conferință Raport științific pentru etapa I Pagina WEB</b>
	<b>A1.2.</b> Sinteza acidului scualenic	
	<b>A1.3.</b> Sinteza scualenei PEG-ilate prin legătură imină sau amidă	
	<b>A1.4.</b> Caracterizarea structurală a aldehidei scualenice, a acidului scualenic și a scualenei PEG-ilate	
	<b>A1.5.</b> Caracterizarea morfologică a derivaților de scualenă PEG-ilată	
	<b>A1.6.</b> Determinarea concentrației critice micelare a derivaților de scualenă PEG-ilată	
	<b>A1.7.</b> Sinteza noilor terapeutice prin scualenizarea medicamentelor comerciale (metotrexat și citarabină)	
	<b>A1.8.</b> Sinteza noilor nanoterapeutice prin încapsularea medicamentelor comerciale (metotrexat și citarabină) în ansamblurile micelare de scualenă PEG-ilată	
	<b>A1.9.</b> Caracterizarea structurală a medicamentelor (metotrexat și citarabină) scualenizate	
	<b>A1.10.</b> Determinarea gradului de încapsulare a medicamentelor (metotrexat și citarabină) în nanoansamblurile de scualenă PEG-ilată	
	<b>A1.11.</b> Caracterizarea morfologică a noilor nanoterapeutice	
	<b>A1.12.</b> Determinarea profilului de eliberare fiziologică a medicamentelor (metotrexat și citarabină) din nanoterapeutice	
	<b>A1.13.</b> Determinarea <i>in vitro</i> a citotoxicității nanoterapeuticilor obținute pe liniile celulare normale	
	<b>A1.14.</b> Evaluarea eficienței <i>in vitro</i> pe linii celulare tumorale a nanoterapeuticilor obținute	

**Etapa I – 2022** a proiectului **Drug-ReSQue** a fost dedicată obținerii, caracterizării fizico-chimice și evaluării proprietăților biologice unor sisteme nanoterapeutice antitumorale pe bază de derivați de scualenă și



medicamente comerciale (metotrexat **MTx** și citarabină **Cit**) conform activităților prevăzute pentru această etapă:

Astfel, activitățile **AI.1. – AI.5.** au fost îndeplinite prin sinteza și caracterizarea fizico-chimică a derivaților de scualenă (aldehida scualenică **SQ-CHO**, acidul scualenic **SQ-COOH** și scualena PEG-ilată **SQ-PEG**).

În cadrul activității **AI.6.** au fost realizate studii de determinare a concentrației critice micelare (**CMC**) a **SQ-PEG** utilizând pirenul ca fluorofor și spectroscopia prin fluorescență pentru determinarea modificărilor în spectrele de emisie. Rezultatele obținute au arătat că în soluții apoase **SQ-PEG** deține o valoare a **CMC** de **0,154 mg/mL**.

La activitățile **AI.7.** și **AI.8.** au fost obținute două sisteme noi prin scualenizarea medicamentelor **Cit** și **MTx** (**SQ-Cit** și **SQ-MTx**) și două sisteme noi prin încapsularea medicamentelor în formațiuni micelare de **SQ-PEG** (**SQ-PEG-(Cit)** și **SQ-PEG-(MTx)**). Obținerea medicamentelor scualenizate a fost demonstrată prin spectroscopia **RMN** de proton și carbon, prin **FT-IR** și **ESI-MS** (**AI.9.**).

Activitatea **AI.10.** a fost îndeplinită prin determinarea gradului de încapsulare a medicamentelor **MTx** și **Cit** în structurile micelare de **SQ-PEG** utilizând spectroscopia **UV-Vis**. Rezultatele obținute au arătat eficiențe de încapsulare de ~ 54 % în cazul **MTx** și de ~ 45 % pentru **Cit**, cu capacități de încapsulare de ~ 4 % și respectiv ~ 3,5 %.

În cadrul activității **AI.11.** noile nanoterapeutice au fost caracterizate din punct de vedere morfologic prin **STEM** și **DLS**, iar rezultatele obținute în urma acestor studii au arătat că atât **SQ-PEG-(MTx)** cât și **SQ-PEG-(Cit)** au morfologie sferică cu dimensiuni nanometrice și tendințe mici de agregare, însă nanoterapeuticul **SQ-PEG-(Cit)** a prezentat diametre hidrodinamice mai mari decât omologul său pe bază de **MTx** la ambele valori de pH studiate. Mai mult, prin înregistrarea potențialelor zeta, s-au obținut valori negative cuprinse între -3 și +3 mV ceea ce indică o stabilitate coloidală scăzută, după cum era de așteptat.

La activitatea **AI.12.** ce a implicat determinarea profilelor de eliberare a medicamentelor în condiții fiziologice și tumorale, au fost obținute rezultate remarcabile care demonstrează că prin încapsularea medicamentelor în miclele de **SQ-PEG** se obține o eliberare controlată dictată de valoarea pH-ului și de temperatură.

Activitățile **AI.13** și **AI.14** au fost îndeplinite prin realizarea unor studii *in vitro* de citotoxicitate (celule normale) și eficiență antitumorală (celule tumorale) a celor două nanoterapeutice obținute. Rezultatele din cadrul acestor studii au arătat că prin încapsularea medicamentelor **MTx** și **Cit** în miclele de **SQ-PEG** se îmbunătățesc proprietățile biologice astfel: citotoxicitatea scade, iar eficiența antitumorală este îmbunătățită pe ambele linii celulare fără nicio selectivitate. Rezultatele obținute în cadrul acestei etape au fost diseminate sub forma unui raport științific și un poster prezentat la o conferință națională cu participare internațională.